Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 21, No. 1, Mar.-Apr., 2025, p. 47-59

Shelf Life Extension of Grouper Fish Fillet (*Epinephelus coioides*) Using Biodegradable Chitosan/Chia Mucilage Coating Containing *Rubia tinctorum* L. Plant Extract

M. Nouri[1*]

1- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran
(*- Corresponding Author Email: Marjan.nouri@iau.ac.ir)

Received: 19.07.2024 Revised: 19.09.2024 Accepted: 10.11.2024 Available Online: 16.02.2025	**How to cite this article:** Nouri, M. (2025). Shelf life extension of Grouper fish fillet (*Epinephelus coioides*) using biodegradable chitosan/chia mucilage coating containing *Rubia tinctorum* L. plant extract. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 21*(1), 47-59. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.88978.1349

Introduction

Fish supplies a type of nutrients containing protein and long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs) and micronutrients such as selenium, iodine, potassium, D and B-vitamins. Groupers are one of the best fishes in the south of Iran that are extensively distributed in tropical and warm waters all over the world. The perishability is considered as one of the main problems for fish with high nutritional value in food supply chains during the shelf life. The use of edible coatings indicates a novel method to extend the shelf life. The aim of present research was to apply biodegradable chitosan/ chia mucilage coating containing *Rubia tinctorum* L. plant extract (0, 0.5, 1 and 2 % as T_1, T_2, T_3 and also T_4) on the surface of grouper fillet fish to maintain qualitative and microbial attributes during the shelf life (1, 15, 30 and 45 days).

Materials and Methods

The qualitative and qualitative assays (peroxide index (meq O_2/kg sample), thiobarbituric acid (mg MA/kg), total volatile nitrogen (mg /100 g) and trimethylamine (mg /100 g)), microbial counts (aerobic mesophilic and lactic acid bacteria, total coliforms, mold and also yeast), texture (hardness, adhesion, flexibility, cohesiveness and gumminess), sensory attributes (taste, smell, color, texture and overall evaluation) and measurement of identified biogenic amines were carried out during the shelf life.

Results and Discussion

The results illustrated that oxidation parameters of treatments such as peroxide index, trimethylamine, total volatile nitrogen components and thiobarbituric acid were declined by increasing the extract concentration in a fixed time period ($p \geq 0.05$). The highest and lowest microbial loads were obtained in T_1 and T_4 during the storage, respectively. The microbial counts increased significantly ($p < 0.05$) by extending the storage time of treatments and on the other hand, this decreased significantly ($p < 0.05$) by increasing the concentration of *Rubia tinctorum* L. extract in a fixed period of time. The utilization of *Rubia tinctorum* L. extract and chia mucilage in a coating of chitosan created a synergistic effect and led to a lower microbial load in treatments. On the other hand, a reduction was occurred in textural attributes particularly cohesiveness and hardness through moisture loss and drying of coating surface in fillets during storage ($p < 0.05$). The softening tissue could be related to the higher microbial activities during storage, although intensity of these changes was lower in T_3 and T_4 treatments due to the lower microbial load, which indicated the positive effect of *Rubia tinctorum* L. extract on maintaining tissue quality. All examined factors changed and most of the mentioned parameters in T_1 and T_2 exceeded the permissible limit during storage, but T_3 and T_4 had better conditions during storage. Finally, fish fillet coated with 1 % *Rubia tinctorum* L. extract (T_3) compared to others demonstrated better sensory evaluation at the end of shelf life, which was selected as the superior treatment. The type and amount of biogenic amines in control and T_3 (superior sample) illustrated that the highest amine compound was recorded for histamine at 79.87 (mg/kg) on the 15th day and the lowest level in tyramine at 0.79 (mg/kg) on the 1st day of storage. The concentration of amines increased

significantly during storage time ($p < 0.05$).

Conclusion

The results shown that applying chitosan/ chia mucilage coating including *Rubia tinctorum* L. extract has significant effect on extending the shelf life of fish fillets.

Keywords: Anitoxidant, Edible coating, Grouper fillet, *Rubia tinctorum* L., Shelf life

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۱، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۴، ص. ۵۹-۴۷

افزایش عمر ماندگاری فیله ماهی (*Epinephelus coioides*) با پوشش زیست‌تخریب‌پذیر کیتوزان/موسیلاژ چیا حاوی عصاره روناس (*Rubia tinctorum* L.)

مرجان نوری[۱*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۰

چکیده

از عمده‌ترین مشکلات ماهی با وجود ارزش تغذیه‌ای بالا، فسادپذیری در دوره نگهداری است. هدف از پژوهش حاضر بکارگیری پوشش زیست‌تخریب‌پذیر کیتوزان/موسیلاژ چیا حاوی عصاره گیاه روناس *Rubia tinctorum* L. (غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) بر روی فیله ماهی هامور به‌منظور حفظ خصوصیات کیفی و میکروبی در مدت زمان ماندگاری (۱، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز) بود. بر روی نمونه‌ها بررسی‌های فیزیکوشیمیایی (اندیس پراکسید (meq O_2/kg sample)، اندیس اسید تیوباربیتوریک (mg MA/kg)، نیتروژن کل فرار (mg /100 g) و تری متیل آمین (mg /100 g)، بافت (سختی، چسبندگی، انعطاف‌پذیری، انسجام و صمغی بودن)، شمارش میکروبی (باکتری‌های میانه دوست هوازی، کپک و مخمر، کلی فرم و باکتری‌های اسید لاکتیک)، خصوصیات حسی (مزه، بو، رنگ، بافت و ارزیابی کلی) و شناسایی و اندازه‌گیری آمین‌های بیوژن در مدت زمان نگهداری انجام پذیرفت. نتایج نشان داد با افزایش درصد عصاره، در یک بازه زمانی ثابت، پارامترهای اکسیداسیون تیمارها مانند اندیس پراکسید، تری متیل آمین، ترکیبات ازته فرار کل و اندیس اسید تیوباربیتوریک کاهش پیدا کرد ($p < ۰/۰۵$). از سوی دیگر کاهش ویژگی‌های بافتی به‌ویژه سختی و انسجام با از دست دادن رطوبت و خشک‌شدن پوشش سطحی نمونه‌ها در طول دوره نگهداری رخ داد و شمارش میکروبی به شکل معنی‌داری افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). در نهایت تیمار فیله ماهی دارای پوشش ۱ درصد عصاره گیاه روناس در مقایسه با سایر تیمارها ویژگی‌های حسی مناسب تری را در انتهای دوره نگهداری نشان داد و به‌عنوان تیمار برتر انتخاب شد. نوع و میزان آمین‌های بیوژن در نمونه‌های شاهد و برتر نشان داد بیشترین ترکیب آمین، هیستامین به میزان (mg/kg) ۷۹/۸۷ در روز پانزدهم و کمترین آن، تیرامین به میزان (mg/kg) ۰/۷۹ در روز نخست نگهداری ثبت شده است. نتایج کلی نشان داد که به‌کارگیری پوشش کیتوزان/موسیلاژ چیا حاوی عصاره روناس بر افزایش ماندگاری فیله ماهی تأثیرگذار است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پوشش خوراکی، عصاره روناس، فیله ماهی هامور، ماندگاری

مقدمه

ماهی هامور (*Epinephelus coioides*)، با وجود میزان پایین چربی، منبع غنی از اسیدهای چرب امگا ۳ به‌ویژه اسیدهای EPA[۲] و DHA[۳] و پروتئین می‌باشد و به‌دلیل آثار مفید تغذیه‌ای، جلوگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات قلبی، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است (Chieng *et al.*, 2018). علی‌رغم ارزش تغذیه‌ای بالا، از عمده‌ترین مشکلات آن فسادپذیری سریع در طول دوره نگهداری می‌باشد که در صورت عدم ایجاد شرایط مناسب زیان‌های اقتصادی، مشکلات سلامتی را نیز به همراه دارد (Morachis-Valdez *et al.*, 2021; Marhoume *et al.*, 2021).

یکی از روش‌های افزایش ماندگاری محصولات غذایی، پوشش‌دهی است که از پوشش خوراکی کیتوزان همراه با عصاره‌های بره موم (Nawaz *et al.*, 2020)، رزماری (Ebadi *et al.*, 2019)، لیموترش (Rezaeifar *et al.*, 2020)، زنجبیل، لیمو و چای سبز

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Marjan.nouri@iau.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2024.88978.1349
۲- Eicosapentaenoic acid
۳- Docosahexaenoic acid

(Chaijan *et al.*, 2020)، شاهی (Shah Hosseini *et al.*, 2020)، سیر (Youssef *et al.*, 2021)، نعناع فلفلی (Marhoume *et al.*, 2021) و پوست انار (Yu *et al.*, 2022) برای نگهداری ماهی استفاده شده است.

گیاه روناس (*Rubia tinctorum* L.) متعلق به خانواده Rubiaceae و از گیاهان مهم صنعتی (رنگرزی) و دارویی (ضد سرطان و نقرس) به حساب می‌آید که در طب سنتی کاربرد دارد و به‌دلیل حضور ترکیبات آنتراکوئینون ازجمله آلیزارین، پورپورین، لوسیدین، روبیادین و مشتقات آن‌ها گزینه مناسبی جهت بکارگیری در پوشش‌های خوراکی است (Houari *et al.*, 2022). گیاه روناس شامل ترکیبات بیولوژیکی و فنولی از جمله هسپریدین، اسید تارتاریک، روتین، اولئوروپین، اسید کلروژنیک، اسید گالیک، کوئرستین-۳-گلوکوزید، اپی کاتچین و ... است که بیانگر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی است (Kabiri *et al.*, 2019). آلیزارین آنتراکینون، محصول هیدرولیز اسید روبرتیریک، به‌عنوان جزء اصلی رنگ روناس تانتروم در نظر گرفته می‌شود (Houari *et al.*, 2022). تاکنون کاربرد عصاره روناس به‌عنوان رنگ طبیعی بر ویژگی‌های کیفی، اثر کشندگی آن روی شته برگ برنج (Rastegari *et al.*, 2015)، استفاده در دسر شیری طعم‌دار (Kabiri *et al.*, 2019)، ترکیب ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی (Hoseinzadeh *et al.*, 2020) و جداسازی آلیزارین و پورپورین از روناس به‌منظور سرکوب فیبریلاسیون انسولین و کاهش سمیت سلولی ناشی از آمیلوئید (Wang *et al.*, 2021) مورد بررسی قرار گرفته است.

دانه چیا (*Salvia hispanica* L.) از گیاه چیا سالویا هیسپانیکا (Labiatae) از تیره نعناییان (Salvia) و متعلق به دسته سالویا می‌باشد. دانه چیا دارای ارزش غذایی بالا و شامل ۹۱ تا ۹۶ درصد ماده خشک، ۲۰ تا ۲۲ درصد پروتئین، ۳۰ تا ۳۵ درصد چربی، ۲۱ تا ۴۵ درصد کربوهیدرات، ۱۸ تا ۳۰ درصد فیبرخام (بیشترین سلولز قابل هضم آن پنتوزان و لیگنین) و ۴ تا ۶ درصد خاکستر است (Zettel, & Hitzmann, 2018). چیا منبع جدیدی از ایزوفلاون‌ها است که به‌دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدان بالا می‌تواند در رژیم غذایی، گنجانده شود و امروزه مصرف موسیلاژ آن به‌عنوان پوشش مطرح است (Mujtaba *et al.*, 2023). کیتوزان یک پلی‌کاتیون داستیله شده طبیعی است که از واحدهای D-گلوکز آمین و N-استیل D-گلوکزآمین تشکیل شده است و از طریق گروه‌های آمین خود در واکنش‌های شیمیایی مختلف شرکت می‌کند (Marhoume *et al.*, 2021). کیتوزان به‌دلیل در دسترس بودن، فعالیت ضد میکروبی، سازگاری زیستی، قابلیت هضم آسان، غیر سمی بودن، غیر سرطان‌زایی، قدرت جذب بالا، انبساط و کشیدگی شدید، اتصال‌دهندگی، تغلیظ‌کنندگی، پایدارکنندگی، ضد اکسیدانی، ژل‌ای شدن، جاذب مواد رنگی و محرک کم سیستم ایمنی بعنوان پوشش خوراکی کاربرد دارد (Abdollahzadeh *et al.*, 2023).

هدف از انجام این تحقیق، بالابردن سطح کیفیت فیله ماهی هامور در مدت زمان ماندگاری با استفاده از خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی پوشش خوراکی کیتوزان/موسیلاژ چیا غنی شده با عصاره روناس بود. لازم به توضیح است که مطالعات مختلفی مطالعه شد اما در این زمینه خاص پژوهشی یافت نشد که بیانگر نوآوری این پژوهش است. لذا بدین منظور پس از پوشش‌دهی فیله ماهی با کیتوزان/موسیلاژپیا حاوی عصاره روناس، برخی از ویژگی‌های خصوصیات فیزیکوشیمیایی (اندیس پراکسید (meq O_2/kg sample)، اندیس اسید تیوباربیتوریک (mg MA/kg)، نیتروژن کل فرار (mg /100 g) و تری متیل آمین (mg /100 g)) شمارش میکروبی (باکتری‌های میانه دوست هوازی، کپک و مخمر، کلی‌فرم و باکتری‌های اسید لاکتیک)، بافت (سختی، چسبندگی، انعطاف‌پذیری، انسجام و صمغی بودن)، خصوصیات حسی (مزه، بو، رنگ، بافت و ارزیابی کلی) و شناسایی و اندازه‌گیری آمین‌های بیوژن فیله‌های ماهی در مدت زمان ماندگاری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری از گیاه روناس

گیاه روناس به‌صورت خشک‌شده از فروشگاه محلی خریداری شد و به‌منظور جداسازی عصاره، ۵۰ گرم از گیاه در آسیاب کاملاً خرد و با استفاده از همزن (بوش مدل MFQP1000، آلمان) با دور پایین، به مدت ۷۲ ساعت در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار دیونیزه همزده شد. سپس عصاره توسط فیلتر استریل (سلولز نیترات ۴۷ میلی‌متر، FilterBio) صاف و با استفاده از دستگاه تبخیر کننده تحت خلاء، تغلیظ (بوچی مدل R-300 R100, سوئیس) و تا زمان استفاده در شیشه تیره، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Karim *et al.*, 2010).

تهیه تیمارها با پوشش‌های خوراکی

در ابتدا ماهیان هامور با میانگین وزنی ۷۰۰ گرم تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند و پس از شستشو، مراحل سرزنی، تخلیه شکمی، پوست‌کنی و فیله‌سازی انجام پذیرفت. جهت تهیه پوشش خوراکی، از کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (۵۰-۷۰ kDa) و دانه چیا استفاده شد. بدین منظور ۵ گرم پودر کیتوزان به یک لیتر آب مقطر افزوده شد. از سوی دیگر موسیلاژ دانه چیا در دمای استخراج ۸۰ درجه سانتی‌گراد، به‌مدت ۴ ساعت با نسبت هیدراتاسیون ۱:۴۰ (دانه چیا:آب) استخراج گردید (Mujtaba *et al.*, 2023). دو ترکیب مورد استفاده در پوشش

با نسبت ۵۰:۵۰ جهت انحلال کامل به‌مدت ۳ ساعت روی همزن مغناطیسی در دمای اتاق همزده شد. عصاره تهیه شده از روناس با توئین ۸۰ (مرک، آلمان) جهت توزیع یکنواخت مخلوط گردید (El-Obeid *et al*., 2018). تیمارهای مورد نظر از حل کردن عصاره روناس در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد در محلول کیتوزان/موسیلاژ چیا با کدهای T_1، T_2، T_3 و T_4 تهیه گردید. سپس زیر هود (در دمای اتاق)، فیله‌ها به‌مدت یک دقیقه در محلول‌ها غوطه‌ور شدند. پس از خشک شدن، نمونه‌های شاهد و تیمار شده به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل، و به‌مدت ۴۵ روز در فواصل زمانی ۱۵ روزه تحت آزمایش‌های کیفی و حسی قرار گرفتند.

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

در محاسبه اندیس پراکسید[1] (PV) ابتدا نمونه با حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک: کلروفرم با نسبت ۲:۳ مخلوط شد، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد به محتویات ارلن اضافه شد. مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید و با توجه به رابطه (۱) میزان پراکسید محاسبه شد (Rezaeifar *et al*., 2020).

$$\mathrm{PV} = \frac{\text{حجم مصرفی تیوسولفات} \times \text{نرمالیته} \times 1000}{\text{وزن نمونه روغن}} \qquad (۱)$$

جهت اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید[2] (TBA)، ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه ماهی به بالن ۲۵ میلی‌لیتر انتقال داده شد و با محلول ۱-بوتانول به حجم رسانده شد سپس ۵ میلی‌لیتر از این مخلوط به لوله‌ی درب‌دار منتقل و ۵ میلی‌لیتر معرف اسید تیوباربیتویک به آن اضافه گردید. لوله‌های فوق به‌مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس در دمای محیط مقدار جذب نور در ۵۳۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Bausch & Lomb، ساخت آلمان) در مقابل آب مقطر خوانده شد و مطابق رابطه (۲) میزان اسید تیوباربیتوریک محاسبه گردید (Shah Hosseini *et al*., 2020).

$$TBA = \frac{50 \times (\text{جذب نمونه شده تیمار} - \text{جذب نمونه شاهد})}{200} \qquad :(۲)$$

در اندازه گیری ترکیبات ازته‌ی فرار[3] (TVB-N) ۱۰ گرم از نمونه ماهی، ۲ گرم اکسید منیزیم (کاتالیزور)، ۲ قطره ضد کف و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن کلدال اضافه شد. سپس اسید بوریک ۲ درصد و ۲ قطره متیل رد در ارلن ۲۵ میلی‌لیتر ریخته شد سپس محتویات را حرارت داده تا به جوش بیاید و حدود ۲۰ دقیقه عمل تقطیر انجام شد. محلول تقطیر شده با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید و مطابق رابطه (۳) میزان آن محاسبه گردید (Nawaz *et al*., 2020).

$$\mathrm{TVB-N} = \frac{\text{میزان اسید} \times 1.4 \times 100}{\text{وزن نمونه}} \qquad :(۳)$$

جهت اندازه‌گیری تری‌متیل آمین[4] (TMA) از روش AOAC(1995) استفاده شد و در نهایت با دستگاه اسپکتروفوتومتر تغییر رنگ ایجاد شده نمونه‌ها، در طول موج ۴۱۰ نانومتر خوانده شد (Youssef *et al*., 2021).

آنالیز بافت

آنالیز پروفایل بافت با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (Hounsfield H5KS, England) مجهز به یک پروب استوانه‌ای TA25/1000 به قطر ۱/۲۷ سانتی‌متر با نیروی بارسلولی ۵ کیلونیوتن و سرعت ۱ میلی‌متر بر ثانیه انجام شد. سه برش از نمونه‌های ماهی (۳ سانتی‌متر ضخامت و ۳ سانتی‌متر قطر) آماده و تا با دمای اتاق به تعادل برسد. سپس فاکتورهای سختی، پیوستگی، انعطاف‌پذیری، چسبندگی و خاصیت صمغی با استفاده از نرم‌افزار Texture Pro CT V1.6 Build محاسبه گردید (Tabarestani *et al*., 2010).

بررسی ویژگی‌های میکروبی

ابتدا تحت شرایط استریل و در زیر هود آزمایشگاهی، ظروف حاوی نمونه را باز کرده و مقدار ۱۰ گرم از نمونه در کیسه‌های پلاستیکی استریل مخصوص قرار داده شد و سپس ۹۰ میلی‌لیتر محلول رینگر استریل به آن افزوده شد و سپس کیسه جهت هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استومیکر به‌مدت ۳ دقیقه منتقل گردید. سپس با اضافه کردن ۱ میلی‌لیتر به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر رینگر، رقت‌های بعدی آماده و به این ترتیب رقیق‌سازی متوالی انجام شد. و بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت PCA و به روش کشت سطحی کشت داده شد. به‌منظور شمارش کلی باکتری‌های هوازی، از استاندارد ملی ایران، به شماره ۲۳۹۴ و محیط کشت نوترینت آگار استفاده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد جهت رشد باکتری‌های مزوفیل به‌مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. جهت کشت و شمارش کپک و مخمر از محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار استفاده شد و پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ روز گرمخانه گذاری شدند. برای شمارش کلی فرم از محیط‌کشت پلیت کانت آگار (PCA) استفاده و گرمخانه‌گذاری در ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت انجام پذیرفت. به‌منظور شمارش

۱- Peroxide *value*
۲- Thiobarbituric acid
۳- Total volatile basic nitrogen
۴- Trimethylamine

باکتری‌های اسید لاکتیک از محیط‌کشت MRS (De Man–Rogosa–Sharpe agar) استفاده شد و در ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری و سپس تعداد پرگنه‌ها در هر پلیت شمارش شدند (Zeng *et al*., 2016).

ارزیابی حسی

نمونه‌ها پس از تولید با استفاده از آون (بهداد، ایران) در مدت کوتاهی پخته شدند، سپس ارزیابی حسی پذیرش فیله‌ی ماهی با روش هدونیک پنج‌نقطه‌ای انجام شد. ارزیابان این پژوهش از نمرات پنج تا یک (از عالی تا ضعیف) برای تعیین درجه کیفیت و مطلوبیت هر نمونه پس از پخت، از نظر ویژگی‌ها شامل مزه، رایحه، رنگ، بافت و پذیرش کلی استفاده کردند. پخت در ماکروویو به‌مدت ۴ دقیقه انجام شد (Rezaeifar *et al*., 2020).

شناسایی و اندازه‌گیری آمین‌های بیوژن

جهت آماده‌سازی، ۲۰۰ میکرولیتر متانول به نمونه‌ها اضافه و از فیلتر با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد سپس ۲۰ میکرولیتر از این محلول با سرنگ میکرولیتری همیلتون به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا HPLC (Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) تزریق گردید. اساس سنجش جداسازی آمین‌های بیوژن، استفاده از فاز معکوس با سیستم ایزوکراتیک[1] متانول و آب (به نسبت حجمی ۷۰ و ۳۰) با جریان حلال ۱/۱ (میلی‌لیتر در دقیقه) در دمای محیط و قرائت میزان جذب در طول موج ۲۵۴ نانومتر بود. سپس بر اساس تطابق زمان ماندگاری نمونه‌های مجهول با نمونه‌های استاندارد، آمین‌ها شناسایی و با توجه به سطح زیر پیک‌ها و منحنی‌های استاندارد، تعیین غلظت شدند (Mietz, & Karmas, 1978).

ارزیابی آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از شاخص‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی، میکروبی و حسی با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام پذیرفت. در این پژوهش روش آنالیزواریانس دوطرفه (بلوک‌های تصادفی) جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار (در سطح ۹۵ درصد) میان نتایج با در نظر گرفتن اثر توام زمان و غلظت‌های مختلف با بکارگیری آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

پارامترهای فیزیکوشیمیایی

نتایج جدول ۱ بیانگر میزان اندیس پراکسید، اسید تیوباربیتوریک، نیتروژن کل فرار و تری متیل آمین نمونه‌های و تیمار شده در بازه زمانی ۴۵ روزه است. نتایج نشان داد با افزایش مدت زمان نگهداری، با اختلاف معنی‌داری اندیس پراکسید در نمونه T_1 و T_2 کاهش یافت اما در بقیه تیمارها این عامل افزایش یافت. اندیس اسید تیوباربیتوریک، نیتروژن کل فرار و تری متیل آمین به شکل معنی‌داری افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). از سوی دیگر با افزایش درصد عصاره روناس (تیمار T_4)، در یک بازه زمانی ثابت، فاکتورها کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$).

مطابق با کاهش عدد پراکسید در نمونه‌های شاهد و تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره، محققان نیز بیان کردند با افزایش دوره نگهداری، کاهش ناگهانی شاخص پراکسید در نمونه‌ها به‌ویژه نمونه شاهد دیده شد که ممکن است به‌دلیل شکسته شدن هیدروپراکسیدها به مولکول‌های کوچک‌تر و محصولات ثانویه اکسیداسیون مانند آلدئیدها کربونیل‌ها و ترکیبات فرار حاصل از آن‌ها باشد (Rezaeifar *et al*., 2020). حد مجاز بازهای ازته فرار برای فرآورده‌های دریایی بر اساس گزارش‌های موجود ۳۰ تا ۳۵ (میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت آبزی) گزارش شده است (Marhoume *et al*., 2021). نتایج بازهای ازته فرار تیمارهای دارای ۱ و ۲ درصد عصاره تا انتهای دوره نگهداری در محدوده حد مجاز قرار داشت (جدول ۱). بکارگیری ۲ درصد پوشش کیتوزان دارای ۰/۳ درصد گلیسرول مونولورات در گذر زمان نشان داد که کاهش معنی‌دار در اندیس‌های اسید تیوباربیتوریک، تری متیل آمین و پراکسید بوجود آمده است، به گونه‌ای که میزان اسید تیوباربیتوریک از (mg N/100g) ۰/۲۰ در روز نخست به (mg N/100g) ۰/۸۸ پس از ۲۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد رسیده بود (Yu *et al*., 2017) که بکارگیری کیتوزان در این پژوهش هم نشانگر روندی مشابه بود. حضور پوشش کربوکسی متیل کیتوزان با عصاره پوست انار جهت حفظ کیفیت گوشت ماهی در طول یخچال نشان دهنده این بود که که در نمونه‌های پوشش‌داده شده در مقایسه با شاهد، میزان نیتروژن کل فرار و اندیس پراکسید در روز نهم به شدت کاهش یافت (Yu *et al*., 2022). همچنین از پوشش کیتوزان همراه با عصاره نعناع فلفلی برای بهبود کیفیت ماهی کپور استفاده شد و اسید تیوباربیتوریک برابر با (mg N/100g) ۳۳/۳ برای نمونه کنترل و مقادیر (mg N/100g) ۲۷/۲، ۲۵/۳ و ۲۳/۳ برای پوشش‌های حاوی عصاره نعناع فلفلی گزارش شد (Marhoume *et al*., 2021). در بررسی اثر پوششی کیتوزان (۰ و ۱ درصد) همراه با عصاره رزماری (۰ و ۱ درصد) بر کیفیت گوشت موری (*Cirrhinus mrigala*) در طول نگهداری مشخص شد

---

[1] ۱- Isocratic

که فاکتورهای اندیس پراکسید، اسید تیوباربیتوریک و تری متیل آمین در تیمارهای حاوی رزماری کاهش یافته است (Nawaz *et al.*, 2020) در این تحقیق نیز مطابق با پژوهش های ذکر شده اثر هم‌افزایی کیتوزان و عصاره بر بهبود خصوصیات کیفی فیله ماهی در دوره نگهداری مشاهده شد.

جدول ۱- نتایج پارامترهای فیزیکوشیمیایی (میزان اندیس پراکسید، اسید تیوباربیتوریک، نیتروژن کل فرار و تری متیل آمین) تیمار ماهی بدون پوشش و پوشش داده شده در دمای ٤ درجه سلسیوس طی ٤٥ روز

Table 1- The results of qualitative parameters (PV, TBA, TVB-N and TMA) of uncoated and coated fish treatment in 4 ºC during 45 days

تیمارها Treatments		پاسخ‌ها Responses 1	15	30	45
میزان اندیس پراکسید PV (meq O_2/kg sample)	T_1	0.63±0.07^{D}	1.33±0.07^{F}	0.09±0.00^{C}	0.03±0.01^{A}
	T_2	0.68±0.08^{D}	0.95±0.05^{EF}	2.10±0.11^{GH}	0.05±0.02^{B}
	T_3	0.57±0.05^{D}	0.77±0.06^{E}	1.09±0.04^{EF}	2.58±0.06^{H}
	T_4	0.59±0.06^{D}	0.75±0.08^{E}	0.93±0.04^{EF}	1.70±0.05^{G}
اسید تیوباربیتوریک TBA (mg MA/kg)	T_1	0.60±0.05^{B}	1.47±0.10^{D}	4.08±0.13^{F}	4.24±0.22^{G}
	T_2	0.64±0.04^{B}	0.94±0.05^{C}	2.04±0.12^{E}	4.01±0.35^{F}
	T_3	0.52±0.04^{A}	0.71±0.06^{B}	1.19±0.10^{CD}	2.48±0.12^{F}
	T_4	0.50±0.06^{A}	0.63±0.03^{B}	0.90±0.04^{C}	1.69±0.13^{DE}
نیتروژن کل فرار TVB-N (mg /100 g)	T_1	3.45±0.13^{A}	13.45±0.37^{H}	32.74±0.97^{I}	39.05±1.02^{J}
	T_2	3.36±0.19^{A}	9.50±0.51^{D}	21.42±0.32^{H}	33.02±0.81^{I}
	T_3	3.39±0.10^{A}	6.53±0.37^{C}	11.76±0.30^{E}	18.19±0.19^{G}
	T_4	3.49±0.21^{A}	5.04±0.12^{B}	8.57±0.22^{D}	14.41±0.27^{F}
تری متیل آمین TMA (mg /100 g)	T_1	0.47±0.02^{A}	13.58±0.39^{A}	21.09±0.11^{I}	25.71±0.20^{J}
	T_2	0.48±0.08^{A}	7.77±0.20^{F}	19.36±0.39^{H}	22.05±0.39^{I}
	T_3	0.51±0.08^{A}	1.91±0.09^{C}	7.63±0.27^{F}	16.01±0.27^{G}
	T_4	0.59±0.08^{B}	0.94±0.10^{C}	2.56±0.25^{D}	4.05±0.22^{E}

*حروف تفاوت معنی‌داری را برای هر آزمون نشان می‌دهد (p < ۰/۰۵).

*Letters indicate a significant difference for each test ($p < 0.05$).

ارزیابی ویژگی‌های میکروبی

جدول ۲، بیانگر شمارش بار میکروبی (باکتری‌های میانه دوست هوازی، کپک و مخمر، کلی فرم و باکتری‌های اسید لاکتیک) در نمونه‌های شاهد و تیمار شده در بازه ۴۵ روزه است. با توجه به نتایج به دست آمده، در طول دوره نگهداری به غیر از روز اول، بالاترین میزان شمارش کلی میکروبی در نمونه T_1 (شاهد) مشاهده شد. پایین‌ترین میزان آن نیز در طول دوره نگهداری در نمونه T_4 (دارای ۲ درصد عصاره رواس) بدست آمد. نتایج نشان داد با افزایش مدت زمان نگهداری تیمارها، میزان شمارش به شکل معنی‌داری رو به افزایش بود (p < ۰/۰۵) و در مقابل با افزایش درصد عصاره رواس، در یک بازه زمانی ثابت، میزان بار میکروبی به شکل معنی‌داری رو به کاهش گذاشت (p < ۰/۰۵). در مدت زمان ماندگاری، روند تغییرات میزان باکتری‌های کلیفرم و اسید لاکتیک نمونه‌های فیله ماهی مشابهه با تغییرات میزان باکتری‌های میانه دوست هوازی بود. در روزهای ۳۰ ام و ۴۵ ام ماندگاری، میزان جمعیت کپک و مخمر در نمونه‌های T_1 و T_2 به شدت افزایش پیدا کرده، چرا که فساد آن‌ها مشهود بوده و شمارش کپک و مخمر تیمارهای T_3 و T_4 کمتر از یک سیکل لگاریتمی در طول ۴۵ روز تغییر نشان داد. فلور میکروبی اصلی فرآورده‌های دریایی عمدتا از دسته‌ی باکتری‌های اسید لاکتیک، هوازی و گرم منفی است و با توجه به سرعت رشد این دسته از میکروارگانیسم‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، کپک و مخمر فرصت چندانی برای رقابت با آن‌ها پیدا نمی‌کنند مگر در محیط، فساد مشاهده شود (Shah Hosseini *et al.*, 2020).

در پژوهش حاضر حضور عصاره رواس در پوششی از کیتوزان و موسیلاژ چیا حالت هم‌افزایی ایجاد کرده و منجر به کمتر شدن بار میکروبی در تیمارها شد که هم راستا با پژوهش‌های انجام شده مبنی بر اثبات ویژگی‌های ضدمیکروبی کیتوزان و عصاره رواس بر روی قارچ‌ها و باکتری‌ها است (Rastegari *et al.*, 2015; Hoseinzadeh *et al.*, 2020; Nawaz *et al.*, 2020; Rezaeifar *et al.*, 2020; Marhoume *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2022). این خصوصیت عصاره رواس می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی و کینون همچون آنتراکینون، تانن و مشتقات پلی‌فنولی باشد (Houari *et al.*, 2022).

جدول ۲- شمارش میکروبی (باکتری‌های هوازی میانه دوست، کپک و مخمر، باکتری‌های کلیفرم و باکتری‌های اسید لاکتیک) تیمار ماهی بدون پوشش و پوشش داده شده در دمای ٤ درجه سلسیوس طی ٤٥ روز

Table 2- Microbial count (Mesophilic aerobic bacteria, mold and yeast, coliform and lactic acid bacteria) of uncoated and coated fish treatment in 4 ºC during 45 days

زمان (روز) Time (day)	تیمارها Treatments	شمارش میکروبی Microbial count (Log cfu/g)			
		باکتری‌های هوازی میانه دوست Mesophilic aerobic bacteria	کپک و مخمر Mold and yeast	باکتری‌های کلیفرم Coliform	اسید لاکتیک Lactic acid bacteria
1	T_1	3.08 ± 0.02^{A}	2.27 ± 0.03^{B}	2.56 ± 0.07^{B}	2.24 ± 0.07^{B}
	T_2	3.06 ± 0.03^{A}	2.29 ± 0.05^{B}	2.06 ± 0.07^{A}	2.16 ± 0.04^{A}
	T_3	3.12 ± 0.03^{AB}	2.18 ± 0.03^{A}	2.54 ± 0.06^{B}	2.21 ± 0.08^{B}
	T_4	3.05 ± 0.03^{A}	2.17 ± 0.02^{A}	2.53 ± 0.03^{B}	2.13 ± 0.08^{A}
15	T_1	7.84 ± 0.06^{F}	3.10 ± 0.13^{E}	3.51 ± 0.16^{E}	7.42 ± 0.20^{I}
	T_2	6.37 ± 0.11^{E}	2.51 ± 0.05^{C}	2.83 ± 0.12^{D}	3.55 ± 0.05^{D}
	T_3	4.79 ± 0.07^{C}	2.27 ± 0.07^{B}	2.69 ± 0.07^{C}	3.56 ± 0.12^{D}
	T_4	3.96 ± 0.12^{B}	2.26 ± 0.06^{B}	2.68 ± 0.07^{C}	2.82 ± 0.04^{C}
30	T_1	9.55 ± 0.25^{G}	4.01 ± 0.30^{G}	6.71 ± 0.08^{J}	9.50 ± 0.05^{J}
	T_2	8.11 ± 0.10^{G}	3.96 ± 0.09^{F}	3.60 ± 0.11^{E}	4.61 ± 0.14^{F}
	T_3	5.82 ± 0.11^{D}	3.23 ± 0.07^{EF}	3.92 ± 0.07^{F}	3.96 ± 0.07^{E}
	T_4	4.98 ± 0.10^{C}	3.10 ± 0.10^{E}	3.94 ± 0.10^{F}	3.94 ± 0.11^{E}
45	T_1	11.20 ± 0.14^{H}	6.00 ± 0.11^{I}	7.41 ± 0.05^{K}	12.01 ± 0.22^{K}
	T_2	9.82 ± 0.33^{G}	4.71 ± 0.25^{H}	6.08 ± 0.02^{I}	9.11 ± 0.15^{I}
	T_3	7.47 ± 0.13^{F}	2.78 ± 0.10^{D}	5.22 ± 0.15^{H}	6.28 ± 0.11^{H}
	T_4	6.65 ± 0.15^{E}	2.58 ± 0.08^{D}	3.95 ± 0.11^{G}	5.36 ± 0.12^{G}

*حروف تفاوت معنی‌داری را برای هر آزمون نشان می‌دهد ($p < ۰/۰۵$).

*Letters indicate a significant difference for each test ($p < 0.05$).

ترکیبات بیولوژیک موجود در عصاره‌ها، غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها، افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی و خروج ATP می‌شود که منجر به کاهش ذخیره انرژی و مرگ سلول خواهد شد (Shafaghi Rad & Nouri, 2023). حضور پوشش کربوکسی متیل کیتوزان حاوی عصاره پوست انار بر حفظ کیفیت ماهی، نشان‌دهنده کاهش زنده‌مانی میکروبی بیش از(Log cfu/g) ۱/۴ در مقایسه با نمونه کنترل در روز ۶ ماندگاری در سرما شد که بیانگر سرکوب قابل توجه باکتری‌های مولد فساد مانند شوانلا[1] بود (Yu *et al.*, 2022). استفاده از پوشش کیتوزان همراه با عصاره نعناع فلفلی برای پوشش ماهی کپور نشانگر فعالیت ضدمیکروبی با هاله عدم رشد به قطر ۱۴/۳ میلی‌متری برای *استافیلوکوکوس اورئوس* بود (Marhoume *et al.*, 2021). فیله‌های ماهی تیمار شده با فیلم فعال مبتنی بر کیتوزان/پلی وینیل الکل با غلظت ۰/۸ پس از ۱۲ روز نگهداری، بار میکروبی کمتری نسبت به نمونه شاهد داشت (Chen *et al.*, 2024).

ارزیابی بافت

از آنجایی‌که نتایج آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی نمونه‌ها بعد از گذشت ۱۵ روز نگهداری بالاتر از حد استاندارد ملی ایران بود در نتیجه بقیه آزمایش‌ها در این دوره ماندگاری (۱۵ روزه) انجام شد. جدول ۳، پارامترهای بافتی (سختی، چسبندگی، انعطاف، انسجام و حالت صمغی بودن) نشان داد، با افزایش مدت زمان نگهداری تیمارها، ویژگی‌های بافتی به شکل معنی‌داری کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$) و در مقابل افزایش میزان عصاره منجر به حفظ خصوصیات بافتی شد. کاهش ویژگی‌های بافتی به‌ویژه سختی و انسجام مرتبط با کاهش رطوبت و خشک شدن سطح در مدت زمان نگهداری بود، همچنین سختی بیشتر در روز نخست به‌دلیل آبدار بودن بافت عضلانی ماهی در ابتدای دوره نگهداری است که مطابق با نتایج محققان پیشین بود (Karim *et al.*, 2010; Marhoume *et al.*, 2021; Youssef *et al.*, 2021). از سوی دیگر نرم‌شدگی بافت می‌تواند به افزایش فعالیت‌های میکروبی در مدت زمان ماندگاری مرتبط باشد البته شدت این تغییرات در نمونه‌های T_3 و T_4 به‌دلیل بار میکروبی کمتر، پایین‌تر بود که بیانگر تأثیر مثبت غلظت بالاتر عصاره روناس بر حفظ کیفیت بافت است. در بررسی اثر پوشش کیتوزان و عصاره انار بر دوره ماندگاری، این پوشش سبب جلوگیری از نرم شدن ماهی در طی ۹ روز گردیده است (Yu *et al.*, 2022). طی تحقیق انجام شده توسط چایجان و همکاران (Chaijan *et al.*, 2020) ماهی *Lates calcarifer* پوشیده شده با پوشش پروتئین آب پنیر حاوی عصاره‌های فنولی زنجبیل، لیمو و چای سبز دارای سختی بیشتری در طول مدت

۱. Shewanella

نگهداری ۲۰ روزه نسبت به نمونه شاهد بود، محققان علت این امر را پیوندهای ایجاد شده میان پروتئین/پروتئین، پروتئین/فنول عصاره و پروتئین/آب که در حفظ آب بافت تأثیرگذار بود و یا عصاره که می‌تواند به‌عنوان بازدارنده فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک ماهی عمل کند، ذکر نمودند (Chaijan *et al*., 2020). تأثیر پوشش ترکیبی اسید کلروژنیک و کیتوزان بر سختی بافت ماهی *Snakehead fish* در سردخانه در ماه دوم نگهداری معنی‌دار بود، اما با گذشت زمان تا ماه پنجم میان تیمارها و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (Cao *et al*., 2020).

جدول ۳- پارامترهای بافت (سختی، چسبندگی، انعطاف، انسجام و حالت صمغی بودن) تیمار ماهی بدون پوشش و پوشش داده شده در دمای ٤ درجه سلسیوس طی ۱۵ روز

Table 3- Texture parameters (hardness, adhesiveness, flexibility, cohesiveness and gumminess) uncoated and coated fish treatment in 4 ºC during 15 days

زمان Time (day)	تیمارها Treatments	خصوصیات بافت Texture properties سختی Hardness (N)	چسبندگی Adhesiveness (J)	انعطاف Flexibility (cm)	انسجام Cohesiveness	حالت صمغی بودن Gumminess (J)
1	T_1	11.72±0.15^{E}	-0.16±0.02^{D}	0.24±0.06^{E}	0.22±0.04^{F}	0.68±0.3^{F}
	T_2	11.65±0.44^{E}	-0.18±0.01^{F}	0.23±0.02^{D}	0.22±0.05^{F}	0.61±0.18^{E}
	T_3	12.00±0.53^{F}	-0.17±0.01^{E}	0.26±0.02^{F}	0.21±0.02^{E}	0.67±0.09^{F}
	T_4	11.80±0.95^{E}	-0.17±0.02^{E}	0.29±0.07^{G}	0.21±0.01^{E}	0.74±0.17^{G}
15	T_1	6.32±0.22A^{C}	-0.11±0.07^{A}	0.15±0.03^{A}	0.10±0.02^{A}	0.17±0.5^{A}
	T_2	5.41±0.09^{B}	-0.12±0.01^{B}	0.17±0.05^{B}	0.12±0.01^{B}	0.21±0.07^{B}
	T_3	9.37±0.36^{C}	-0.14±0.03^{C}	0.20±0.09^{C}	0.17±0.17^{C}	0.34±0.02^{D}
	T_4	10.14±0.28^{D}	-0.14±0.02^{C}	0.21±0.04^{C}	0.19±0.03^{D}	0.24±0.06^{C}

*حروف تفاوت معنی‌داری را برای هر آزمون نشان می‌دهد (p < ۰/۰۵).

*Letters indicate a significant difference for each test ($p < 0.05$).

ارزیابی حسی

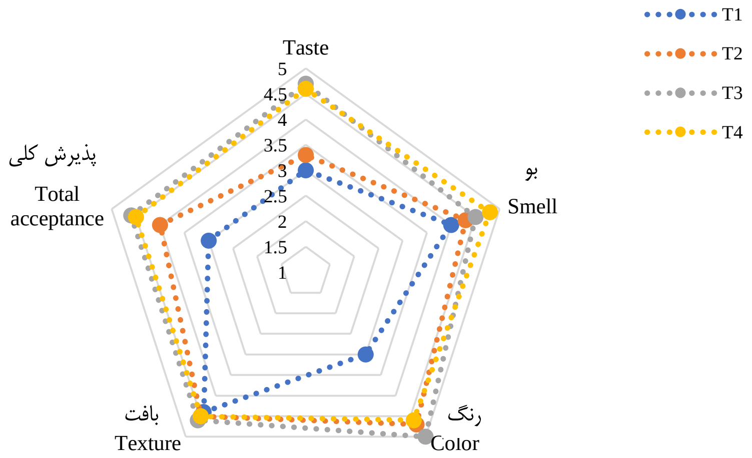
ارزیابی حسی تیمارهای فیله ماهی‌های شاهد و پوشش داده شده با عصاره روناس در روز پانزدهم در شکل ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج بدست آمده، تفاوت معنی‌داری میان تیمارها از نظر رنگ، طعم، بو، بافت و پذیرش کلی مشاهده نشد (p > ۰/۰۵) البته ارزیابان بیشترین امتیاز پذیرش کلی را به نمونه T_3 دادند.

نتایج نشان داد تغییر ویژگی‌های حسی در تیمارهای مختلف همسو با تغییرات اکسیداسیون و فساد باکتریایی بود که می‌تواند به‌دلیل اکسیداسیون چربی (منجر به تخریب و افت کیفیت حسی)، کاهش مقدار مواد مغذی از جمله اسیدهای چرب چند غیر اشباع ضروری و تولید فرآورده‌های سمی اکسیداسیون باشد (Shadman *et al*., 2017). تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان غنی شده با عصاره و اسانس لیموترش بر ماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشان‌دهنده تأثیر مثبت این پوشش بر ویژگی‌های حسی محصول بود (Rezaeifar *et al*., 2020). اثر پوشش کیتوزان همراه با عصاره رزماری بر کیفیت گوشت ماهی موری (*Cirrhinus mrigala*) در طول نگهداری در بازه زمانی ۲۴ روزه، نشان‌دهنده تأثیر مثبت پوشش و عصاره در امتیاز ارزیابی حسی بود (Nawaz *et al*., 2020). تأثیر معنی‌دار پوشش ترکیبی اسید کلروژنیک و کیتوزان بر رنگ و مزه ماهی (*Snakehead fish*) در سردخانه به‌مدت ۵ ماه مشاهده شد، اما بر سایر فاکتورها مانند طعم، بو و بافت بی‌تأثیر بود (Cao *et al*., 2020). پژوهش دیگری نشان داد که پوشش پروتئین آب پنیر حاوی عصاره‌های فنولی متفاوت زنجبیل، لیمو و چای سبز بر کاهش ترکیبات فرار (آلدهیدها، کتون‌ها و استرها) حاصل از واکنش‌های بیوشیمیایی در طول دوره نگهداری تأثیرگذار بوده است و بهترین امتیاز طعم به تیمار ماهی (*Lates calcarifer*) حاوی عصاره زنجبیل تعلق گرفت (Chaijan *et al*., 2020). در پژوهش دیگری نتایج نشان داد فیله‌های ماهی (*Nemipterus japonicus*) تیمار شده با کیتوزان و عصاره بره موم بهترین ویژگی‌های حسی را در ده روز ماندگاری داشتند (Ebadi *et al*., 2017).

نوع و میزان آمین‌های بیوژن

در جدول ۴، نوع آمین‌های بیوژن و در شکل ۲، میزان آنها در نمونه‌های شاهد و T_3 (نمونه برتر) نشان داده شده است. با توجه به نتایج، بیشترین ترکیب آمین، هیستامین به میزان ۷۹/۸۷ (mg/kg) در روز پانزدهم و کمترین آن، تیرامین به میزان ۰/۷۹ (mg/kg) در روز نخست نگهداری ثبت شد. با افزایش مدت زمان نگهداری، غلظت آمین‌ها به شکل معنی‌داری افزایش یافت (p < ۰/۰۵).

طعم



شکل ۱- پارامترهای ارزیابی حسی (طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی) تیمارهای ماهی بدون پوشش و پوشش داده شده در دمای ٤ درجه سلسیوس در روز پانزدهم

Fig. 1. Sensory evaluation parameters (taste, smell, color, texture and overall acceptance) of uncoated and coated fish treatments at 4 °C on the 15th day.

طبق یافته‌های برخی محققان افزایش غلظت آمین‌ها ناشی از رشد باکتری‌های تجزیه کننده هیستامین می‌باشد (Krell *et al.*, 2021). ماهیان به‌عنوان منبع غنی از پروتئین در شرایط طبیعی، دارای میزان اندکی هیستیدین آزاد هستند، اما با گذشت زمان، فرآیند پروتئولیز سبب افزایش میزان رهایش این اسید آمینه از پروتئین‌های عضله خواهد شد (Mietz, & Karmas, 1978).

با این حال در پژوهش حاضر وجود عصاره روناس در نمونه تیمار شده نسبت به شاهد موجب کاهش چشمگیر میزان آمین‌های بیوژن شد که در ارتباط با ترکیبات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و رنگدانه‌های موجود در عصاره بود. در پژوهشی به افزایش آمین‌های بیوژن در اختاپوس و اسکوئید در دمای یخچال، اشاره شد که غلظت هیستامین کاملا در ارتباط با رشد باکتریایی در طول دوره نگهداری است و آمین‌های بیوژن همانند هیستامین، کاداورین، پوترسین و تیرامین در ۷۵ نمونه ماهی شناسایی شدند که عمدتا کمتر از ۱۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در بازه ۱۰ روز نگهداری گزارش شدند (Hu *et al.*, 2012). در مطالعه دیگری پوشش کیتوزان و عصاره انار سبب کاهش تجمع آمین‌های بیوژن در دوره ماندگاری شد (Yu *et al.*, 2022)، که هم راستا با پژوهش حاضر بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده با گذشت زمان خواص فیزیکوشیمیایی، بافت، میکروبی و حسی نمونه‌های فیله‌ماهی دستخوش تغییر شد و اغلب پارامترهای یاد شده در نمونه‌های T_1 و T_2 به بالاتر از حد مجاز رسیدند، اما نمونه‌های T_3 و T_4 شرایط مطلوب‌تری در طول دوره نگهداری سپری کردند. در نهایت با توجه به اینکه ارزیابان تمایل بیشتری به تیمار T_3 نشان دادند، این تیمار (پوشش کیتوزان/موسیلاژ چیا حاوی ۱ درصد عصاره روناس) به‌عنوان تیمار برتر جهت تولید صنعتی پیشنهاد می‌شود که دارای پتانسیل لازم برای استفاده در پوشش محصولات فسادپذیر مانند ماهی و فرآورده‌های دریایی است.

مشارکت نویسندگان

مرجان نوری: مفهوم‌سازی، مدیریت داده‌ها، تحلیل رسمی، تحقیق و بررسی، روش‌شناسی، نرم‌افزار، نوشتن- بررسی و ویرایش را بر عهده داشتند.

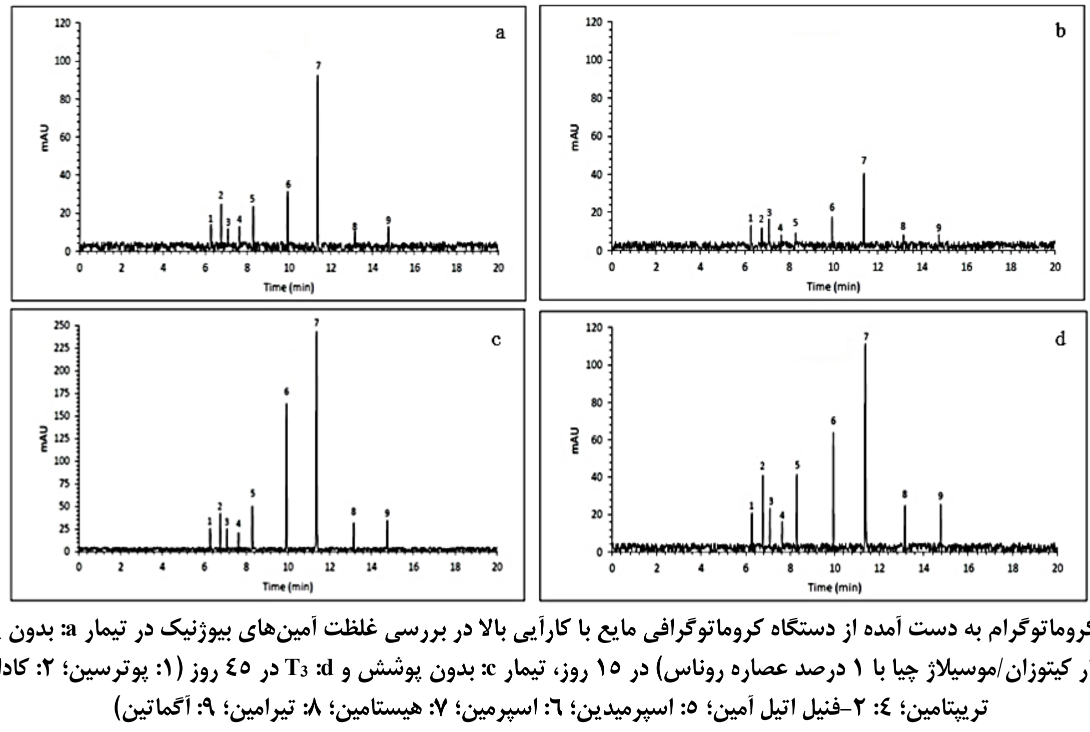
جدول ٤- آنالیز آمین‌های بیوژنیک (mg/kg) در تیمار ماهی بدون پوشش و پوشش داده شده با ۱ درصد عصاره (T_3) در دمای ٤ درجه سلسیوس طی ۱۵ روز توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا

Table 4- Analysis of biogenic amines (mg/kg) in untreated and coated fish with 1 % extract (T_3) at 4 °C for 15 days by HPLC

	غلظت آمین های بیوژنیک Concentration of biogenic amines(mg/kg)			
مدت زمان ماندگاری Shelf life	۱ روز 1 day		۱۵ روز 15 days	
آمین‌ها Amines	تیمار شاهد Control	T_3	تیمار شاهد Control	T_3
پوترسین Putrescine	1.76±0.06^{A}	1.64±0.02^{A}	15.92±0.36^{C}	13.10±0.28^{B}
کاداورین Cadaverine	2.50±0.09^{A}	1.20±0.05^{A}	8.54±0.30^{B}	8.29±0.29^{B}
تریپتامین Tryptamine	1.16±0.02^{A}	1.62±0.05^{A}	5.02±0.30^{B}	4.62±0.11^{B}
۲-فنیل اتیل آمین 2-phenylethylamine	1.52±0.02^{A}	0.95±0.01^{A}	4.92±0.30^{B}	3.84±0.09^{B}
اسپرمیدین Spermidine	2.16±0.03^{B}	0.84±0.01^{A}	9.24±0.22^{D}	7.65±0.10^{C}
اسپرمین Spermine	2.72±0.05^{B}	1.52±0.05^{A}	34.19±0.46^{D}	11.08±0.37^{C}
هیستامین Histamine	10.08±0.34^{B}	4.41±0.11^{A}	79.87±0.97^{D}	38.19±0.65^{C}
تیرامین Tyramine	1.00±0.01^{A}	0.79±0.01^{A}	6.09±0.14^{C}	4.80±0.08^{B}
آگماتین Agmatine	1.54±0.05^{A}	1.99±0.03^{A}	8.26±0.33^{C}	6.11±0.12^{B}

*حروف تفاوت معنی‌داری را برای هر آزمون نشان می‌دهد ($p < ۰/۰۵$).

*Letters indicate a significant difference for each test ($p < 0.05$)



شکل ۲- کروماتوگرام به دست آمده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا در بررسی غلظت آمین‌های بیوژنیک در تیمار a: بدون پوشش و b: T_3 (تیمار کیتوزان/موسیلاژ چیا با ۱ درصد عصاره روناس) در ۱۵ روز، تیمار c: بدون پوشش و d: T_3 در ٤٥ روز (۱: پوترسین؛ ۲: کاداورین؛ ۳: تریپتامین؛ ٤: ۲-فنیل اتیل آمین؛ ٥: اسپرمیدین؛ ٦: اسپرمین؛ ۷: هیستامین؛ ۸: تیرامین؛ ۹: آگماتین)

Fig. 2. Chromatogram obtained from the HPLC device in investigation of biogenic amine concentrations in treatment a: uncoated and b: T_3 (chitosan/chia mucilage with 1 % *Rubia tinctorum L.* extract) in 15 days, treatment c: uncoated and d: T_3 at 45 days (1: putrescine; 2: cadaverine; 3: tryptamine; 4: 2-phenylethylamine; 5: spermidine; 6: spermine; 7: histamine; 8: tyramine; 9: agmatine)

منابع تأمین مالی

این پژوهش طرح تحقیقاتی با کد ۶۲۱/۳۳۹۱ با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن انجام شده است.

سپاسگزاری

تمام افراد و سازمان‌هایی که در نگارش مقاله نقش داشته‌اند، مورد تقدیر قرار می‌گیرند.

References

1. Abdollahzadeh, M., Elhamirad, A. H., Shariatifar, N., Saeidiasl, M., & Armin, M. (2023). Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free/nano-encapsulated essential oil of Golpar (*Heracleum persicum* L.) on quality characteristics and safety of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Microbiology*, *385*, 109996. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109996
2. Cao, X., Islam, M.N., Chitrakar, B., Duan, Z., Xu, W., & Zhong, S. (2020). Effect of combined chlorogenic acid and chitosan coating on antioxidant, antimicrobial, and sensory properties of snakehead fish in cold storage. *Food Science & Nutrition*, *8*(2), 973-981. https://doi.org/10.1002/fsn3.1378
3. Chaijan, S., Panpipat, W., Panya, A., Cheong, L.Z., & Chaijan, M. (2020). Preservation of chilled Asian sea bass (*Lates calcarifer*) steak by whey protein isolate coating containing polyphenol extract from ginger, lemongrass, or green tea. *Food Control*, *118*, 107400. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107400
4. Chen, X., Lan, W., Xu, Z., Li, H., & Xie, J. (2024). Effects of active film based on chitosan/polyvinyl alcohol on the quality of refrigerated sea bass (*Lateolabrax Japonicus*) fillets. *Food Bioscience*, *59*, 103854. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103854
5. Chieng, C.C. Y., Daud, H.M., Yusoff, F.M., & Abdullah, M. (2018). Immunity, feed, and husbandry in fish health management of cultured *Epinephelus fuscoguttatus* with reference to *Epinephelus coioides*. *Aquaculture and Fisheries*, *3*(2), 51-61. https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.01.003
6. Ebadi, Z., Khodanazary, A., Hosseini, S.M., & Zanguee, N. (2019). The shelf life extension of refrigerated *Nemipterus japonicus* fillets by chitosan coating incorporated with propolis extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, *139*, 94-102. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.204
7. El-Obeid, T., Yehia, H.M., Sakkas, H., Lambrianidi, L., Tsiraki, M.I., & Savvaidis, I.N. (2018). Shelf-life of smoked eel fillets treated with chitosan or thyme oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, *114*, 578-583. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.125
8. Hoseinzadeh, A., Sadeghipour, Y., & Behbudi, G. (2020). Investigation preliminary antimicrobial and anticancer properties: on Topic *Rubia tinctorum* plant by using Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS). *Advances in Applied NanoBio-Technologies*, *1*(1), 10-19. https://doi.org/10.47277/AANBT/1(1)14
9. Houari, F.Z., Erenler, R., & Hariri, A. (2022). Biological activities and chemical composition of *Rubia tinctorum* (L) root and aerial part extracts thereof. *Acta Biológica Colombiana*, *27*(3), 403-414. https://doi.org/10.15446/abc.v27n3.95476
10. Hu, Y., Huang, Z., Li, J., & Yang, H. (2012). Concentrations of biogenic amines in fish, squid and octopus and their changes during storage. *Food Chemistry*, *135*(4), 2604-2611. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.121
11. Kabiri, S., Rahimi, S., & Fadaei Noghani, V. (2019). Studying the Madder extract application as a natural colorant on qualitative properties of flavoured milk-based dessert. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, *16*(89), 225-236.
12. Karim, A., Mekhfi, H., Ziyyat, A., Legssyer, A., Bnouham, M., Amrani, S., Atmani, F., Melhaoui, A., & Aziz, M. (2010). Anti-diarrhoeal activity of crude aqueous extract of *Rubia tinctorum* L. roots in rodents. *Journal of Smooth Muscle Research*, *46*(2), 119-123. https://doi.org/10.1540/jsmr.46.119
13. Krell, T., Gavira, J.A., Velando, F., Fernández, M., Roca, A., Monteagudo-Cascales, E., & Matilla, M.A. (2021). Histamine: a bacterial signal molecule. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(12), 6312. https://doi.org/10.3390/ijms22126312
14. Marhoume, F.Z., Aboufatima, R., Zaid, Y., Limami, Y., Duval, R.E., Laadraoui, J., Belbachir, A., Chait, A., & Bagri, A. (2021). Antioxidant and polyphenol-rich ethanolic extract of *Rubia tinctorum* L. prevents urolithiasis in an ethylene glycol experimental model in Rats. *Molecules*, *26*(4), 1005. https://doi.org/10.3390/molecules26041005
15. Mietz, J.L., & Karmas, E. (1978). Polyamine and histamine content of rockfish, salmon, lobster, and shrimp as an indicator of decomposition. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, *61*(1), 139-145. https://doi.org/10.1093/jaoac/61.1.139

16. Morachis-Valdez, A.G., Santillán-Álvarez, Á., Gómez-Oliván, L.M., García-Argueta, I., Islas-Flores, H., & Dublán-García, O. (2021). Effects of peppermint extract and chitosan-based edible coating on storage quality of common Carp (*Cyprinus carpio*) fillets. *Polymers*, *13*(19), 3243. https://doi.org/10.3390/polym13193243
17. Mujtaba, M., Ali, Q., Yilmaz, B.A., Kurubas, M.S., Ustun, H., Erkan, M., Kaya, M., Cicek, M., & Oner, E.T. (2023). Understanding the effects of chitosan, chia mucilage, levan based composite coatings on the shelf life of sweet cherry. *Food Chemistry*, *416*, 135816. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135816
18. Nawaz, T., Fatima, M., Shah, S.Z.H., & Afzal, M. (2020). Coating effect of rosemary extract combined with chitosan on storage quality of mori (*Cirrhinus mrigala*). *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(10), 14833. https://doi.org/10.1111/jfpp.14833
19. Rastegari, S., Alichi, M., Samih, M. A., Minaei, K., & Saharkhiz, J. (2015). Toxicity effect of henna, *Lawsonia inermis* L. and madder *Rubia tinctorum* L. extracts on *Rhopalosiphum padi* L. versus pesticidal effect of pirimicarb and imidacloprid. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *38*(4), 55-66. https://doi.org/10.22055/PPR.2015.11394
20. Rezaeifar, M., Mehdizadeh, T., Mojaddar Langroodi, A., & Rezaei, F. (2020). Effect of chitosan edible coating enriched with lemon verbena extract and essential oil on the shelf life of vacuum rainbow trout (O*ncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Safety*, *40*(3), 12781. https://doi.org/10.1111/jfs.12781
21. Shadman, S., Hosseini, S.E., Langroudi, H.E., & Shabani, S. (2017). Evaluation of the effect of a sunflower oil-based nanoemulsion with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on the physicochemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during cold storage. *LWT-Food Science and Technology*, *79*, 511-517. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.073
22. Shafaghi Rad, M., & Nouri, M. (2023). Inspection of *Capparis spinosa* essential oils for quality assurance of fish burgers during refrigerated storage. *Food Science & Nutrition*, *11*(11), 7229-7241. https://doi.org/10.1002/fsn3.3648
23. Shah Hosseini, S.R., Safari, R., & Javadiyan, S.R. (2021). Evaluation antioxidant effects of Pullulan edible coating with watercress extract (*Nasturtiumn officinale*) on the chemical corruption of fresh beluga sturgeon fillet during storage in a refrigerator. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, *30*(2), 133-146. https://doi.org/10.22092/ISFJ.2021.124553
24. Tabarestani, H.S., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A., & Mahoonak, A.S. (2010). Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresource Technology*, *101*(15), 6207-6214. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.071
25. Wang, W., Zhang, J., Qi, W., Su, R., He, Z., & Peng, X. (2021). Alizarin and purpurin from *Rubia tinctorum* L. suppress insulin fibrillation and reduce the amyloid-induced cytotoxicity. *ACS Chemical Neuroscience*, *12*(12), 2182-2193. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.1c00177
26. Youssef, A.M., El-Sayed, H.S., Islam, E.N., & El-Sayed, S.M. (2021). Preparation and characterization of novel bionanocomposites based on garlic extract for preserving fresh *Nile tilapia* fish fillets. *RSC Advances*, *11*(37), 22571-22584. https://doi.org/10.1039/D1RA03819B
27. Yu, D., Jiang, Q., Xu, Y., & Xia, W. (2017). The shelf life extension of refrigerated grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets by chitosan coating combined with glycerol monolaurate. *International Journal of Biological Macromolecules*, *101*, 448-454. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.038
28. Yu, D., Zhao, W., Dong, J., Zang, J., Regenstein, J.M., Jiang, Q., & Xia, W. (2022). Multifunctional bioactive coatings based on water-soluble chitosan with pomegranate peel extract for fish flesh preservation. *Food Chemistry*, *374*, 131619. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131619
29. Zeng, X., He, L., Guo, X., Deng, L., Yang, W., Zhu, Q., & Duan, Z. (2017). Predominant processing adaptability of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from Chinese traditional low-salt fermented whole fish. *International Journal of Food Microbiology*, *242*, 141-151. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.014
30. Zettel, V., & Hitzmann, B. (2018). Applications of chia (*Salvia hispanica* L.) in food products. *Trends in Food Science & Technology*, *80*, 43-50. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.011